

DIALOG(R) File 351:DERWENT WPI
(c)1998 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

000833560

WPI Acc No: 71-75273S/197147

Uridine-di or triphosphoric acid derivs prodn

Patent Assignee: OGATA K (OGA -I)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Main IPC	Week
JP 71040756	B						197147 B

Priority Applications (No Type Date): JP 6747502 A 19670724

Abstract (Basic): JP 71040756 B

Process comprises interacting yeast cells with a reaction soln. contg. uridic acid, cytidylic acid or pyrimidine cpds. which are their precursors, phosphoric acid donor, sugar source and magnesium salt.

Pyrimidine cpds. which can become precursor for uridic acid or cytidylic acid, is, e.g. uracil cytosine, uridine or cytysine. The reaction is generally conducted at 5 - 40 degrees C at pH of 4.5 - 9.0.

Title Terms: URIDINE; DI; ACID; DERIVATIVE; PRODUCE

Derwent Class: B03; D16; E11

International Patent Class (Additional): C07D-000/00; C12D-000/00

File Segment: CPI

1

⑭ウリジンジまたはトリリン酸誘導体の製法

⑮特 願 昭42-47502

⑯出 願 昭42(1967)7月24日

(特許法第30条第1項適用 昭和42年1月5

28日京都商工会議所において開催された日本
農芸化学会第235回講演会で発表)

⑰発 明 者 橋倉辰六郎

京都市乙訓郡西向日町住宅地野上
山31の12

同 緒方浩一

⑱出 願 人 緒方浩一

箕面市箕面446

代 理 人 弁理士 赤岡迪夫

発明の詳細な説明

本発明はウリジンジフオスフオグルコース(以下UDPGと略記する)、ウリジンジフオスフェート(以下UDPと略記する)、ウリジントリフオスフェート(以下UTPと略記する)等のウリ

ジンジまたはトリリン酸誘導体の生化学的製法に関する。

ウリジンのリン酸誘導体は広く生体内に分布し、重要な働きをしていることが知られている。

例えば、UDPGは動物体内でグリコーゲンあるいは糖合グルクロン酸の前駆体として重要な代謝中間体であり、生化学試薬あるいは医薬品としてその価値を重視されている。

従来、ウリジンリン酸誘導体の製造法として化学的合成法、天然物からの抽出法などが知られ

ているが、その収量は極めて悪く、工業的製法として採用し難いものであった。

本発明によれば、ウリジル酸、シチジル酸もしくはこれらの前駆体となり得るピリミジン系化合物と、リン酸供与体、糖源、マグネシウム塩、そ

の他を含む反応液に、酵母もしくはその菌体処理物を酵素源として添加し、酵素反応させることにより、極めて収率よくウリジンのジまたはトリリ

ン酸誘導体を製造することができる。

本発明の反応基質としてはウリジル酸あるいはシチジル酸の他、これらの前駆体となり得るピリミジン系化合物、例えばウラシル、シトシン、ウリジン、シチジン等も使用できる。

リン酸供与体としては、例えば無機リン酸塩の如く通常の酵素反応に使用されるリン化合物が用いられる。また糖源としては、例えばグルコース、フラクトース、ガラクトース、マンノース、マルトース、ラクトース、しよ糖、グリコーゲン、でん粉、でん粉加水分解物、デキストリン等のいずれか1つまたはそれらの2つ以上の混合物を使用することが出来る。

酵素源としては、例えばパン酵母、ビール酵母等の酵母類が好適であり、酵母の菌体内酵素の通常の利用形態がすべて適用できる。例えば酵母菌体それ自体あるいは菌体を含む培養物をそのまま用いると共に、菌体磨砕物、菌体抽出物、あるいはこれらをアセトン、エタノール、トルエン、酢酸エチルエステル、エーテルなどで処理した乾燥標品等を使用してもよい。

なお、反応液は、必要に応じて界面活性剤、その他通常の酵素反応に使用される添加物を含有していてもよい。

反応条件は、目的化合物、糖類の種類および濃度、菌株の種類、酵素活性の強弱などに応じて酵素を失活せしめない範囲で適宜選択されるが、通常pH 4.5～9.0、反応温度5～40℃が適当である。

本発明によれば、例えばグルコース0.4～0.6モル濃度、リン酸0.1～0.2モル濃度、硫酸マグネシウム0.01～0.03モル濃度、pH 4.5～9.0、温度5～40℃の反応条件において、ウリジル酸は60%の好収率でUDPGに転換される。

上記本発明の方法によれば、反応条件に応じて種々の割合でウリジンのジまたはトリリン酸誘導体、例えばUDPG、UDP、UTPを生ずるが、これらは反応液より必要に応じてイオン交換樹脂

2

法、溶剤抽出法、沈殿法、その他の手段により、それぞれの特性を利用して分離精製される。

実施例 1

5'-ウリジル酸ナトリウム30g、グルコース360g、硫酸マグネシウム15gを0.18モル濃度のリン酸緩衝液(pH 7.0)500mlに溶解し、これに水4ℓとビール酵母のアセトン乾燥菌体450gを添加し、28℃で4時間半振とう反応させた後、5分間加熱して生ずる沈殿をロ別する。この濾液を塩酸でpH 2に調整したのち、10 活性炭のカラムに通し、生成したウリジンのリン酸誘導体を吸着させる。

この活性炭カラムを水洗した後、15%アンモニア性の50%エタノールを通して吸着物を溶出する。溶出液を濃縮し、このウリジンのリン酸誘導体を陰イオン交換樹脂(ダウエックス-1 (C I型))のカラムに吸着させる。このカラムを水洗した後、塩酸と食塩の混合液を通して目的物を溶出する。

この際0.01N塩酸を含む0.04モル食塩溶液で先ずUDPGが溶出され、次いでUDPが溶出される。その後更に食塩の濃度を0.2モルに上げるとUTPが溶出される。

この様にして溶出された各区分を再び活性炭で処理し、濃縮後凍結乾燥すれば、純度95%のUDPG 23.5g、UDP 13g、UTP 2gが得られる。

尚、上記方法において、5'-ウリジル酸ナトリウム及びグルコースを添加しなかつたときは、ウリジノーリン酸誘導体の生成は認められなかつた。

実施例 2

グルコース36g、5'-ウリジル酸370mgおよび硫酸マグネシウム120mgを0.18モル濃度のリン酸緩衝液50mlに溶解し、これにパン酵母の乾燥菌体3gの磨砕物を添加して28℃で4時間静置反応させたところ、反応液中にUTP 300mg、UDPG 30mgおよびUDP 50mgが生成した。

尚、上記方法において、5'-ウリジル酸及びグルコースを添加しなかつたときは、ウリジノーリン酸誘導体の生成は認められなかつた。

実施例 3

5'-ウリジル酸550mg、グルコース1.8gおよび硫酸マグネシウム60mgを含むpH 7.0の45

0.18モルリン酸緩衝液25mlに、ビール酵母のアセトン乾燥菌体2.3gを添加して28℃で24時間静置状態で反応させたところ、反応液1ml中にUDPG 12mg、UTP 2mgの割合で目的化合物を生成した。

尚、上記方法において、5'-ウリジル酸及びグルコースを添加しなかつたときは、ウリジノーリン酸誘導体の生成は認められなかつた。

実施例 4

実施例3において5'-ウリジル酸の代りに5'-シチジル酸を同量用いたところ反応液1ml当り5mgのUDPGが生成した。

尚、上記方法において、5'-シチジル酸及びグルコースを添加しなかつたときは、ウリジノーリン酸誘導体の生成は認められなかつた。

実施例 5

ウリジン37mg、グルコース180mgおよび硫酸マグネシウム6mgを含む0.2モルリン酸緩衝液(pH 7.0)5mlに、270mgのビール酵母のアセトン乾燥菌体を添加し、28℃で4時間振とう反応させたところ、反応液1mlあたり2.5mgのUDPGが生成した。

尚、上記方法において、ウリジン及びグルコースを添加しなかつたときは、ウリジノーリン酸誘導体の生成は認められなかつた。

実施例 6

0.2モルリン酸緩衝液25mlに生パン酵母12.5gおよびトルエン15mlを添加して28℃で60分間振とうした後、この中に5'-ウリジル酸370mg、グルコース1.8gおよび硫酸マグネシウム63mgを添加し、更に6時間振とう反応液1mlあたり3mgのUDPGが生成した。

尚、上記方法において、5'-ウリジル酸及びグルコースを添加しなかつたときは、ウリジノーリン酸誘導体の生成は認められなかつた。

実施例 7

5'-ウリジル酸185mgおよび硫酸マグネシウム61mgを0.2モルリン酸緩衝液(pH 7.0)25mlに溶解し、これにビール酵母のアセトン乾燥物2.5gと種々の糖類を添加して28℃で4時間振とう反応させ、UDPGを得る。

添加した糖と反応液中のUDPGの生成量との関係は次表の如くであつた。

5

6

表

添 加 糖	糖の添加量 (g)	UDPGの生 成量(mg/ml)
グルコース	1.8	8.4
ガラクトース	1.8	0.9
トラクトース	1.8	7.0
マンノース	1.8	3.3
マルトース	3.6	8.3
グリコーゲン	1.8	4.1
し ょ 糖	1.8	10.0
ラフィノース	5.4	5.7
で ん 粉	1.8	1.3
デキストリン	1.8	7.3
無 添 加	—	生成せず

特許請求の範囲

1 ウリジン酸、シチジン酸あるいはこれらの前駆体となり得るピリミジン系化合物と、リン酸供与体、糖源、マグネシウム塩、その他を含む反応液に、酵母菌体もしくはその菌体処理物を作用させることを特徴とするウリジーンジまたはトリリン酸誘導体の製法。

10 引用文献

特 公 昭41-16119

15